2 月 February
2020, 63(2): 142 - 148
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2020.02.003

烟粉虱 MED 隐种钙离子结合蛋白基因的 RNAi 及其生物学效应

郭 磊, 潘正元, 刘佳茵, 韩铭轩, 褚 栋*

(青岛农业大学植物医学学院, 山东省植物病虫害综合防控重点实验室, 山东青岛 266109)

摘要:【目的】前期研究发现烟粉虱 *Bemisia tabaci* MED 隐种 2 个钙离子结合蛋白(BtCaBP1 和 BtCaBP2)参与烟粉虱对溴氰虫酰胺的应激反应。本研究旨在通过 RNAi 干扰钙离子结合蛋白基因,系统揭示钙离子结合蛋白对烟粉虱的生物学影响。【方法】通过 dsRNA 饲喂法分别干扰烟粉虱 MED 隐种成虫钙离子结合蛋白基因 *BtCaBP*1 和 *BtCaBP*2 后,qPCR 检测 *BtCaBP*1 和 *BtCaBP*2 的表达量;观测并比较了 RNAi 3 d 后处理组(分别饲喂 ds*BtCaBP*1 和 ds*BtCaBP*2)和对照组(饲喂 ds*EGFP*)间烟粉虱 MED 隐种亲代成虫(雌雄)寿命、单雌产卵量以及子一代的卵孵化率和成虫前期发育历期等生物学参数。【结果】分别饲喂 ds*BtCaBP*1 和 ds*BtCaBP*2 3 d 后,处理组烟粉虱 MED 隐种靶标基因 *BtCaBP*1 和 *BtCaBP*2 的表达量较对照组均显著降低。处理组中干扰 *BtCaBP*2 后的亲代烟粉虱 MED 隐种成虫寿命(雌: 15.46 ±1.24 d; 雄: 13.84 ±0.38 d)较对照组的(雌: 13.25 ±0.58 d; 雄: 12.67 ±0.65 d)显著延长;处理组的单雌产卵量(39.53 ±3.04)比对照组的(76.06 ±4.76)显著降低;处理组子一代卵孵化率(81.58% ±4.42%)比对照组的(87.22% ±3.21%)显著降低;子一代成虫前期发育历期处理组(24.42 ±1.09 d)比对照组的(27.52 ±1.73 d)显著缩短。而干扰 *BtCaBP*1 基因后,亲代及子一代上述生物学参数没有显著变化。【结论】干扰 *BtCaBP*1 和 *BtCaBP*2 对烟粉虱 MED 隐种具有不同的生物学效应,该结果为后续进一步研究钙离子结合蛋白的生物学功能提供了参考。

关键词: 烟粉虱 MED 隐种; 钙离子结合蛋白; RNA 干扰; 产卵量; 发育历期

中图分类号: Q966 **文献标识码**: A **文章编号**: 0454-6296(2020)02-0142-07

RNAi of the calcium-binding protein gene and its biological effects in *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae)

GUO Lei, PAN Zheng-Yuan, LIU Jia-Yin, HAN Ming-Xuan, CHU Dong* (Key Laboratory of Integrated Crop Pest Management of Shandong Province, College of Plant Health and Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China)

Abstract:【Aim】Our previous study revealed that two calcium-binding proteins (BtCaBP1 and BtCaBP2) are involved in the stress response of *Bemisia tabaci* MED to cyantraniliprole. This study aims to systematically reveal the biological effects of calcium-binding proteins on *B. tabaci* MED by RNAi of their genes.【Methods】After knocking down the calcium-binding protein genes *BtCaBP*1 and *BtCaBP*2 in *B. tabaci* MED adults by feeding dsRNA, the expression levels of the two genes were determined by qPCR. The biological parameters including the longevity (female and male) and fecundity of adults, and the egg hatching rate and pre-adult duration of offspring of *B. tabaci* MED between the control group (feeding on ds*EGFP*) and the treatment group (feeding on ds*BtCaBP*1 and ds*BtCaBP*2, respectively)

基金项目: 国家自然科学基金项目(31601659); 山东省自然科学基金项目(ZR2016CQ08); 泰山学者青年专家计划(tsqn20161040)
作者简介: 郭磊, 男, 1985 年 7 月生, 山西太原人, 博士, 副教授, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: guoleicau@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: chinachudong@qau.edu.cn
收稿日期 Received: 2019-10-09; 接受日期 Accepted: 2019-12-09

were observed and compared after RNAi for 3 d. 【Results】 After feeding on ds*BtCaBP*1 and ds*BtCaBP*2, respectively, for 3 d, the expression levels of the target genes *BtCaBP*1 and *BtCaBP*2 of *B. tabaci* MED adults decreased significantly as compared with those in the control group. Compared with the control group, the ds*BtCaBP*2 treated-group had significantly increased the longevity (female: 15.46 ± 1.24 d *vs* 13.25 ± 0.58 d; male: 13.84 ± 0.38 d *vs* 12.67 ± 0.65 d), significantly decreased the number of eggs laid per female (39.53 ± 3.04 *vs* 76.06 ± 4.76), significantly decreased the egg hatching rate of offspring (81.58% ± 4.42% *vs* 87.22% ± 3.21%), and significantly shortened the pre-adult duration of offspring (24.42 ± 1.09 d *vs* 27.52 ± 1.73 d). However, feeding on ds*BtCaBP*1 had no significant effect on the above biological parameters of *B. tabaci* MED. 【Conclusion】 The RNAi of *BtCaBP*1 and *BtCaBP*2 has different biological effects on *B. tabaci* MED, and this finding will be helpful to reveal the function of CaBPs.

Key words: *Bemisia tabaci* MED; calcium-binding protein; RNA interference; fecundity; developmental duration

烟粉虱 *Bemisia tabaci* 是一种世界性分布的重要农业害虫。该虫能通过取食对植物直接造成危害(De Barro *et al*., 2011),还可以作为病毒媒介昆虫传播近 200 种植物病毒(Navas-Castillo *et al*., 2011),其中包括具有毁灭性的植物病毒——番茄黄化曲叶病毒(tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)(Scholthof *et al*., 2011)以及近年来在国内流行的番茄褪绿病毒(tomato chlorosis virus, ToCV)(郑慧新等, 2016)。烟粉虱是一个含有许多隐种的复合种,目前全世界至少包括 44 个烟粉虱隐种(Kanakala and Ghanim, 2019)。这些隐种在形态上难以区分,但在生物学特性(例如繁殖力、寄主范围等)上均存在显著差异(Brown, 2000; Brown *et al*., 2003)。在中国,烟粉虱 MED 隐种(即 Q 型烟粉虱)是目前分布最广并对作物造成危害最严重的烟粉虱隐种。自 2003 年该隐种在国内首次报道以来,它已逐年取代了其他烟粉虱隐种成为田间烟粉虱优势隐种(Chu *et al*., 2006, 2010; Teng *et al*., 2010)。

钙离子是真核生物细胞内重要的第二信使,其浓度变化是细胞生理功能调控过程中最关键的因素之一(Schneider, 1994)。钙离子结合蛋白(calcium-binding protein, CaBP)含有保守的 EF-手型(EF-hand)结构域,并且当其与钙离子结合后能够改变三维构象,从而与下游靶标结合引发后续生理变化(Kretsinger and Nockolds, 1973; Sorensen *et al*., 2002)。作为一种细胞内广泛分布的调控蛋白,钙离子结合蛋白通过与钙离子可逆性的结合在钙离子信号通路中发挥着重要的作用(Mikhaylova *et al*., 2011; Bagur and Hajnóczky, 2017)。由于钙离子结合蛋白参与细胞从增殖到凋亡的各个环节,因此在生物体的正常生长发育中是一类不可或缺的蛋白。前期研究发现,烟粉虱体内 2 个钙离子结合蛋白(BtCaBP1 和 BtCaBP2)参与稳定细胞内钙离子浓度,从而增强烟粉虱对双酰胺类杀虫剂溴氰虫酰胺的耐药能力(Guo *et al*., 2019)。然而,在上述研究中仅观察了基因干扰后 48 h 的自然死亡率,并未对烟粉虱后续的生物学参数进行持续观察。这 2 个钙离子结合蛋白基因表达受到抑制是否影响烟粉虱的生物学特性并不清楚。

为了系统揭示钙离子结合蛋白对烟粉虱生物学的影响,本研究利用 dsRNA 饲喂法干扰了烟粉虱 2 个钙离子结合蛋白基因(*BtCaBP*1 和 *BtCaBP*2)表达后,进一步比较了处理组与对照组烟粉虱亲代雌雄成虫寿命、单雌产卵量以及子一代卵孵化率和成虫前期发育历期的变化。研究结果进一步明确了 BtCaBP1 和 BtCaBP2 对烟粉虱生物学的影响。

1　材料与方法

1.1　试虫

本实验的烟粉虱 MED 隐种初始种群于 2012 年采自山东省济南市,在实验室以棉花(鲁棉研 28 号)进行继代饲养至今。烟粉虱饲养环境为:温度 27 ± 1℃,相对湿度 60% ± 5%,光周期 16L∶8D。

1.2　烟粉虱钙离子结合蛋白基因的 RNA 干扰

根据 *BtCaBP*1(GenBank 登录号: MK204650), *BtCaBP*2 (GenBank 登录号: MK204651) 和 *EGFP* (GenBank 登录号: JQ693016)的序列信息,分别设计 dsRNA 引物,并在引物 5′端添加 T7 启动子序列,引物序列见表 1。利用 Trizol 法提取烟粉虱总

RNA,根据 TaKaRa 反转录试剂盒(PrimeScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit)合成 cDNA,利用 PCR 分别扩增 *BtCaBP*1, *BtCaBP*2 和 *EGFP*。PCR 反应体系(50 μL): cDNA 模板 2 μL, Ex Taq 酶 0.25 μL (TaKaRa, 大连), 上下游引物(10 μmol/L)各 1 μL (引物序列见表 1), 10 × Ex Taq Buffer 5 μL,加水补足 50 μL 体系。PCR 反应程序: 94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 5 个循环; 94℃ 30 s, 70℃ 30 s, 72℃ 30 s, 35 个循环。分别以 3 个基因的 PCR 扩增产物为模板,参照 Thermo Scientific 体外双链 RNA(dsRNA)合成试剂盒(TranscriptAid T7 High Yield Transcription Kit)进行 dsRNA 的合成。合成后利用酚仿抽提法回收双链 RNA,并置于 -20℃保存待用。

采用 dsRNA 饲喂法进行 RNA 干扰,随机收集 300 头的烟粉虱 MED 隐种 1 日龄成虫,置于 50 mL 饲喂装置中,其中饲喂管一侧装有 dsRNA (500 ng/μL) 1.5 mL 的蔗糖水溶液(25%),另一侧覆盖有纱网。将装有试虫的饲喂管置于人工气候室中(温度: 27℃ ±1℃;相对湿度: 60% ±5%)。对照组同样收集 300 头烟粉虱 MED 隐种 1 日龄成虫,饲喂含有等量 ds*EGFP* 的蔗糖水溶液。饲喂 dsRNA 3 d 后,随机取出 3 组烟粉虱,每组 30 头。利用上述方法提取烟粉虱总 RNA 并合成 cDNA,利用 qPCR 法检测 RNA 干扰效果。qPCR 反应体系(20 μL): cDNA 模板 1 μL, 2 × SYBR® Premix Ex Taq Ⅱ 预混液 10 μL(TaKaRa, 大连), 上下游引物(10 μmol/L)各 1 μL(引物序列见表 1), 加水补足 20 μL 体系。阴性对照为不加任何模板的 qPCR 反应。所有样品 3 个生物学重复。qRT-PCR 反应程序: 95℃ 30 s; 95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 40 个循环。循环结束后添加溶解曲线。根据前期研究结果(Li *et al.*, 2013; Guo *et al.*, 2017),本实验选择琥珀酸脱氢酶复合物亚基 A 基因(*SDHA*)作为内参基因,并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析目标基因的相对表达水平(Pfaffl, 2001)。

表 1　本实验所用引物序列

Table 1　Primers used in the study

引物 Primer	引物序列(5′-3′) Primer sequence	扩增长度(bp) Amplicon size	用途 Purpose
ds-CaBP1	F: taatacgactcactatagggGACTCGAAACGACCTGCAAT R: taatacgactcactatagggTGAAGTAACCGTCACCATCG	398	RNAi
ds-CaBP2	F: taatacgactcactatagggTCGTCAGTGCGAAAGAAAGA R: taatacgactcactatagggTCTTCGCAATCTGCTCCTTT	353	
ds-EGFP	F: taatacgactcactatagggCAGTGCTTCAGCCGCTAC R: taatacgactcactatagggGTTCACCTTGATGCCGTTC	288	
q-CaBP1	F: CCAGAACCAGTCCAGTCTCA R: CCCAACTCCTCCTTCGTGAT	136	qPCR
q-CaBP2	F: GATGACAAACCTCGGCGAAA R: ACCATTCCGTCACCGTCTAA	84	
q-SDHA	F: GCGACTGATTCTTCTCCTGC R: TGGTGCCAACAGATTAGGTGC	141	

本表引物序列引自 Guo *et al.*, 2019;小写字母为 T7 启动子序列。Primer sequences in the table were adopted from Guo *et al.*, 2019. Lowercase letters indicate T7 promoter sequence.

1.3　钙离子结合蛋白基因干扰后烟粉虱 MED 隐种亲代寿命和产卵量观测

收集 1.2 节中饲喂 dsRNA 3 d 后的烟粉虱 MED 隐种成虫,分辨雌雄并按照雌: 雄 = 1:1的比例放入预先准备好的水培棉花苗中,5 ~ 10 对一组,3 组重复。每天检查棉花苗中成虫的死亡情况以及死亡成虫的性别,每 5 d 更换一次叶片,并统计叶片上的卵数。直至所有成虫死亡。计算亲代成虫单雌产卵量,单雌产卵量 = {∑[每棉花苗上 5 d 总卵量/(总雌虫数 + 第 1 天总活雌虫数 + 第 2 天总活雌虫数 + … + 第 5 天总雌虫数)]} ×5。

1.4　钙离子结合蛋白基因干扰后烟粉虱 MED 隐种子代生长发育指标测定

收集 1.2 节中饲喂 dsRNA 3 d 后的烟粉虱 MED 隐种成虫分辨雌雄并按照雌: 雄 = 1:1的比例放入预先准备好的水培棉花苗中,15 ~ 20 对一组,3 组重复。在水培苗中产卵 24 h 后,清除所有成虫。每天记录水培棉花苗上卵的孵化情况,以及子一代成虫

前期的生长发育情况。需统计的子一代生物学参数包括卵孵化率和成虫前期的发育历期。

1.5　数据分析

基因表达水平、亲代雌雄成虫寿命、单雌产卵量以及子一代卵孵化率和成虫前期发育历期采用平均值 ± 标准差的形式表示。利用 Graphpad 3.0 软件，采用 Student 氏 *t* 检验方法进行差异显著性分析，$P<0.05$ 为差异显著。

2　结果

2.1　饲喂 dsRNA 后烟粉虱 MED 隐种成虫体内靶标基因的表达水平变化

饲喂 dsRNA 3 d 后，利用 qPCR 的方法检测不同处理组中靶标基因 mRNA 的表达水平。与饲喂 ds*EGFP* 的对照组相比，饲喂 ds*BtCaBP*1 的处理组烟粉虱 MED 隐种成虫 *BtCaBP*1 表达水平降低了 36.30%（$P<0.05$），而饲喂 ds*BtCaBP*2 3 d 后烟粉虱 MED 隐种成虫体内 *BtCaBP*2 表达水平降低了 47.01%（$P<0.05$）（图 1）。因此，饲喂 ds*BtCaBP* 和 ds*BtCaBP*2 3 d 均能够显著降低烟粉虱 MED 隐种成虫体内相应靶标基因的表达水平。

2.2　钙离子结合蛋白基因干扰后对烟粉虱 MED 隐种亲代成虫寿命的影响

与饲喂 ds*EGFP* 的对照组雌成虫寿命（13.25 ± 0.58 d）相比，干扰 *BtCaBP*1 后雌成虫寿命（12.58 ± 1.11 d）没有明显变化（$P>0.05$），而干扰 *BtCaBP*2 后雌成虫寿命（15.46 ± 1.24 d）显著延长（$P<0.05$）（图 2：A）。相似的情况同样出现在雄虫中，饲喂 ds*BtCaBP*2 后雄成虫寿命延长至 13.84 ± 0.38 d，显著大于对照组的雄成虫寿命（12.67 ± 0.65 d）（$P<0.05$），而饲喂 ds*BtCaBP*1 的雄成虫寿命（12.71 ± 0.67 d）没有显著变化（$P>0.05$）（图 2：B）。

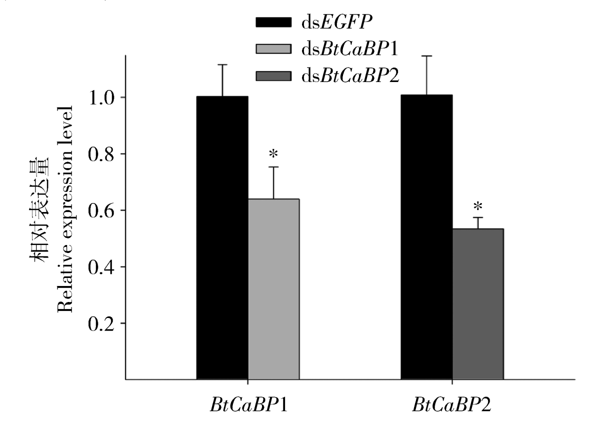
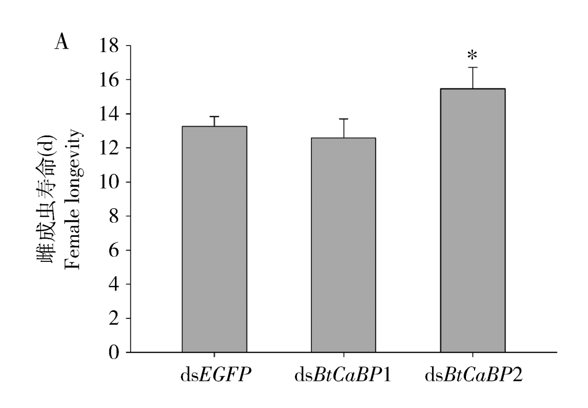


图 1　分别饲喂 ds*EGFP*，ds*BtCaBP*1 和 ds*BtCaBP*2 3 d 后烟粉虱 MED 隐种成虫体内 BtCaBP 基因的相对表达量

Fig. 1　Relative expression levels of BtCaBP genes in *Bemisia tabaci* MED adults after feeding on ds*EGFP*, ds*BtCaBP*1 and ds*BtCaBP*2, respectively, for 3 d

图中数据为 3 次实验重复的平均值 ± 标准差；柱上星号表示与对照组（饲喂 ds*EGFP*）相比经 Student 氏 *t* 检验方法比较在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data in the figure are mean ± *SD* (n = 3). The asterisk above bars indicates significant difference from the control (feeding on ds*EGFP*) by Student's *t*-test ($P<0.05$). 下图同 The same for the following figures.



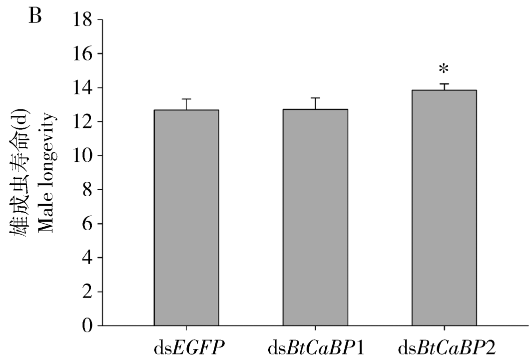


图 2　分别饲喂 ds*EGFP*，ds*BtCaBP*1 和 ds*BtCaBP*2 3 d 后烟粉虱 MED 隐种亲代雌（A）和雄（B）成虫寿命

Fig. 2　Longevity of female (A) and male (B) adults of *Bemisia tabaci* MED after feeding on ds*EGFP*, ds*BtCaBP*1 and ds*BtCaBP*2, respectively, for 3 d

2.3　钙离子结合蛋白基因干扰后对烟粉虱 MED 隐种亲代产卵量的影响

与对照组的单雌产卵量（76.06 ± 4.76）相比，干扰 *BtCaBP*2 后亲代单雌产卵量（39.53 ± 3.04）显著下降（$P<0.05$），而干扰 *BtCaBP*1 后亲代单雌产卵量（63.47 ± 4.26）与对照组没有显著差异（$P>$

0.05)(图3)。

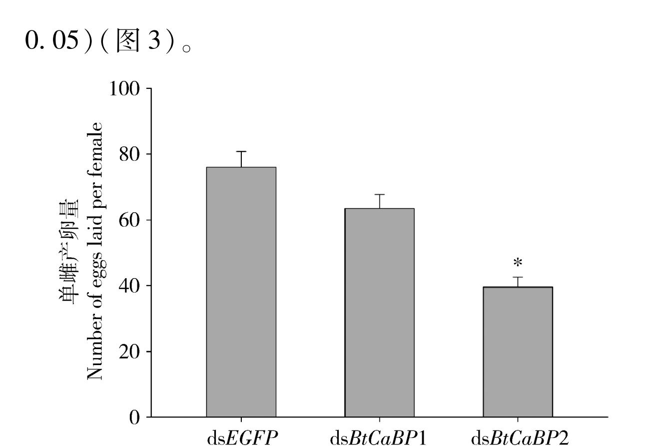


图3 分别饲喂 ds*EGFP*, ds*BtCaBP*1 和 ds*BtCaBP*2 3 d 后烟粉虱 MED 隐种亲代成虫的单雌产卵量

Fig. 3 Number of eggs laid per female adult of *Bemisia tabaci* MED feeding on ds*EGFP*, ds*BtCaBP*1 and ds*BtCaBP*2, respectively, for 3 d

2.4 钙离子结合蛋白基因干扰后对子一代烟粉虱 MED 隐种卵孵化率的影响

与对照组子一代卵孵化率(87.22% ±3.21%)相比,干扰 *BtCaBP*1 后子一代卵孵化率(83.22% ±7.55%)没有明显变化(P>0.05),而干扰 *BtCaBP*2 后卵孵化率(81.58% ±4.42%)显著降低(P<0.05)(图4)。

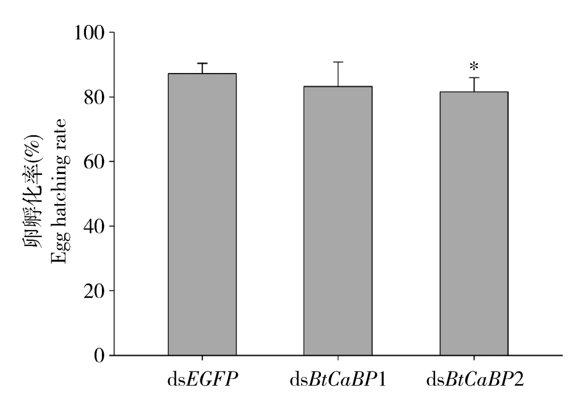


图4 亲代烟粉虱 MED 隐种成虫分别饲喂 ds*EGFP*, ds*BtCaBP*1 和 ds*BtCaBP*2 3 d 后子一代的卵孵化率

Fig. 4 Egg hatching rate of offspring of *Bemisia tabaci* MED adults feeding on ds*EGFP*, ds*BtCaBP*1 and ds*BtCaBP*2, respectively, for 3 d

2.5 钙离子结合蛋白基因干扰后对子一代烟粉虱 MED 隐种成虫前期发育历期的影响

干扰 *BtCaBP*1 后子一代成虫前期发育历期(26.66 ±0.73 d)与对照组(27.52 ±1.73 d)之间没有显著差异(P>0.05),而干扰 *BtCaBP*2 后子一代成虫前期发育历期(24.42 ±1.09 d)显著缩短(P<0.05)(图5)。

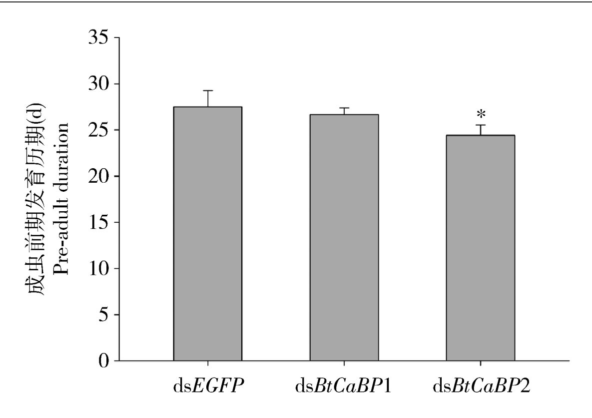


图5 亲代烟粉虱 MED 隐种成虫分别饲喂 ds*EGFP*, ds*BtCaBP*1 和 ds*BtCaBP*2 3 d 后子一代成虫前期发育历期

Fig. 5 Pre-adult duration of offspring of *Bemisia tabaci* MED adults feeding on ds*EGFP*, ds*BtCaBP*1 and ds*BtCaBP*2, respectively, for 3 d

3 讨论

本研究通过 dsRNA 饲喂法干扰烟粉虱钙离子结合蛋白基因 *BtCaBP*1 和 *BtCaBP*2 后,发现烟粉虱 2 个钙离子结合蛋白基因干扰具有不同的生物学效应,其中 *BtCaBP*2 基因干扰后烟粉虱的单雌产卵量显著降低,并且子一代卵孵化率受到了明显的抑制;而 *BtCaBP*1 基因干扰后则没有显著生物学效应。已有研究表明钙离子结合蛋白及其参与的钙离子信号通路在无脊椎动物某些特定的发育过程中发挥着重要作用(Taft and Yoshino, 2011)。其中,钙调素作为一种保守性最高的钙离子结合蛋白在昆虫的生长发育过程中被广泛研究。研究表明,钙调素在果蝇 *Drosophila* 胚胎中线期的信号转导过程中发挥着重要作用,降低钙调素的调控水平会严重影响胚胎的正常发育(Hsouna and Vanberkum, 2008)。利用选择性的抑制剂干扰血吸虫 *Schistosoma mansoni* 体内钙调素的功能后,能够干扰血吸虫卵的正常孵化,造成幼虫的非正常发育,最终导致死亡(Katsumata *et al*., 1989; Kawamoto *et al*., 1989)。近期有研究显示,通过饲喂干扰褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 体内钙调素基因表达后,若虫无法正常蜕皮,雌成虫体内卵黄蛋白显著下降,雌成虫繁殖力显著下降,因此钙调蛋白可能作为害虫防控中的一个重要靶标(Wang *et al*., 2018)。结合本实验结果及上述研究表明,钙离子结合蛋白通过调控钙离子的信号转导在昆虫及其他无脊椎动物的发育和繁殖过程中发挥着关键作

用。但是，分别干扰 *BtCaBP*1 与 *BtCaBP*2 为何对烟粉虱发育产生的影响不同，*BtCaBP*2 基因是如何对烟粉虱生殖力以及卵的发育产生影响，以及 *BtCaBP*1 基因是否能够从其他方面对烟粉虱产生影响尚需进一步证明。

干扰 *BtCaBP*2 对烟粉虱繁殖力和卵孵化率产生抑制作用，但是烟粉虱亲代成虫的寿命却显著增加，子一代成虫前期发育历期显著缩短。前人研究表明，钙离子结合蛋白通过参与刺吸式口器昆虫取食过程中对植物防御反应的影响，从而改变昆虫的生长发育状态。具体表现在刺吸式口器昆虫在取食时会释放出大量钙离子结合蛋白，该类蛋白能够消除钙离子诱导的植物体筛管内阻塞物的形成（Will *et al.*, 2009）。例如，巢菜修尾蚜 *Megoura viciae* 在取食时会释放出钙离子结合蛋白，与豆科植物筛管中的钙离子结合，引起 forisome 蛋白的收缩，进一步阻止了筛管的阻塞并保证了蚜虫的持续取食（Will *et al.*, 2007; Atamian *et al.*, 2013）。稻叶蝉 *Nephotettix cincticeps* 取食时同样会向筛管中释放出一种抑制筛管堵塞的钙离子结合蛋白以保证其正常的取食行为（Hattori *et al.*, 2012）。因此，如果干扰刺吸式口器昆虫在取食过程中释放到植物中的特定钙离子结合蛋白，会增强植物的防御反应，进一步阻碍刺吸式口器昆虫的正常取食，从而造成死亡率的显著增加（Ye *et al.*, 2017）。我们推测，本研究中的 *BtCaBP*2 可能并不属于烟粉虱取食过程中分泌到植物中的一种钙离子结合蛋白，因此干扰 *BtCaBP*2 不会通过改变植物的防御反应的变化影响亲代烟粉虱的寿命。其次，*BtCaBP*2 更可能在烟粉虱生殖方面发挥着关键作用。在多数昆虫生长发育中存在一种权衡关系（trade-off），即繁殖力的增加是以生存能力的降低为代价的（Williams, 1966; Harshman and Zera, 2007）。由于 *BtCaBP*2 处理组烟粉虱繁殖力明显减弱，因此更多的能量可能用于虫体自身的生存能力，导致亲代成虫的寿命显著延长，子一代成虫前期的发育历期明显缩短。

综上所述，本研究表明，与 *BtCaBP*1 相比，*BtCaBP*2 在烟粉虱的繁殖与生长发育中发挥着更加重要的作用，该结果为后续进一步研究钙离子结合蛋白的生物学功能提供了参考。

参考文献（References）

Atamian HS, Chaudhary R, Cin VD, Bao E, Kaloshian I, 2013. In planta expression or delivery of potato aphid *Macrosiphum euphorbiae* effectors Me10 and Me23 enhances aphid fecundity. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 26(1): 67–74.

Bagur R, Hajnóczky G, 2017. Intracellular Ca^{2+} sensing: its role in calcium homeostasis and signaling. *Mol. Cell*, 66(6): 780–788.

Brown JK, 2000. Molecular markers for the identification and global tracking of whitefly vector-*Begomovirus* complexes. *Virus Res.*, 71(1–2): 233–260.

Brown JK, Frohlich DR, Rosell RC, 2003. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? *Annu. Rev. Entomol.*, 40: 511–534.

Chu D, Zhang YJ, Brown JK, Cong B, Xu BY, Wu QJ, Zhu GR, 2006. The introduction of the exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) from the Mediterranean region into China on ornamental crops. *FLa. Entomol.*, 89(2): 168–174.

Chu D, Zhang YJ, Wan FH, 2010. Cryptic invasion of the exotic *Bemisia tabaci* biotype Q occurred widespread in Shandong Province of China. *Fla. Entomol.*, 93(2): 203–207.

De Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB, 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annu. Rev. Entomol.*, 56: 1–19.

Guo L, Li C, Liang P, Chu D, 2019. Cloning and functional analysis of two Ca^{2+}-binding proteins (CaBPs) in response to cyantraniliprole exposure in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *J. Agric. Food Chem.*, 67(40): 11035–11043.

Guo L, Liang P, Fang K, Chu D, 2017. Silence of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor expression decreases cyantraniliprole susceptibility in *Bemisia tabaci*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 142: 162–169.

Harshman L, Zera A, 2007. The cost of reproduction: the devil in the details. *Trends Ecol. Evol.*, 22(2): 80–86.

Hattori M, Nakamura M, Komatsu S, Tsuchihara K, Tamura Y, Hasegawa T, 2012. Molecular cloning of a novel calcium-binding protein in the secreted saliva of the green rice leafhopper *Nephotettix cincticeps*. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 42(1): 1–9.

Hsouna A, Vanberkum MFA, 2008. Abelson tyrosine kinase and calmodulin interact synergistically to transduce midline guidance cues in the *Drosophila* embryonic CNS. *Int. J. Dev. Neurosci.*, 26(3–4): 345–354.

Kanakala S, Ghanim M, 2019. Global genetic diversity and geographical distribution of *Bemisia tabaci* and its bacterial endosymbionts. *PLoS ONE*, 14(3): e0213946.

Katsumata T, Kohno S, Yamaguchi K, Hara K, Aoki Y, 1989. Hatching of *Schistosoma mansoni* eggs is a Ca^{2+}/calmodulin-dependent process. *Parasitol. Res.*, 76(1): 90–91.

Kawamoto F, Shozawa A, Kumada N, 1989. Possible roles of cAMP and Ca^{2+} in the regulation of miracidial transformation in *Schistosoma mansoni*. *Parasitol. Res.*, 75(5): 368–374.

Kretsinger RH, Nockolds CE, 1973. Carp muscle calcium-binding protein II. Structure determination and general description. *J. Biol. Chem.*, 248(9): 3313–3326.

Li R, Xie W, Wang S, Wu Q, Yang N, Yang X, Pan H, Zhou X, Bai L, Xu B, Zhou X, Zhang Y, 2013. Reference gene selection for qRT-PCR analysis in the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*

(Hemiptera: Aleyrodidae). *PLoS ONE*, 8(1): e53006.

Mikhaylova M, Hradsky J, Kreutz MR, 2011. Between promiscuity and specificity: novel roles of EF-hand calcium sensors in neuronal Ca^{2+} signalling. *J. Neurochem.*, 118(5): 695 – 713.

Navas-Castillo J, Fiallo-Olivé E, Sánchez-Campos S, 2011. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 49: 219 – 248.

Pfaffl MW, 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.*, 29(9): e45.

Schneider MF, 1994. Control of calcium release in functioning skeletal muscle fibers. *Annu. Rev. Physiol.*, 56: 463 – 484.

Scholthof KB, Adkins S, Czosnek H, Palukaitis P, Jacquot E, Hohn T, Hohn B, Saunders K, Candresse T, Ahlquist P, Hemenway C, Foster GD, 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.*, 12(9): 938 – 954.

Sorensen BR, Faga LA, Rainbo H, Shea MA, 2002. An interdomain linker increases the thermostability and decreases the calcium affinity of the calmodulin N-domain. *Biochemistry*, 41(1): 15 – 20.

Taft AS, Yoshino TP, 2011. Cloning and functional characterization of two calmodulin genes during larval development in the parasitic flatworm *Schistosoma mansoni*. *J. Parasitol.*, 97(1): 72 – 81.

Teng X, Wan FH, Chu D, 2010. *Bemisia tabaci* biotype Q dominates other biotypes across China. *Fla. Entomol.*, 93(3): 363 – 368.

Wang W, Wan P, Lai F, Zhu T, Fu Q, 2018. Double-stranded RNA targeting calmodulin reveals a potential target for pest management of *Nilaparvata lugens*. *Pest Manag. Sci.*, 74(7): 1711 – 1719.

Will T, Kornemann SR, Furch ACU, Tjallingii WF, van Bel AJ, 2009. Aphid watery saliva counteracts sieve-tube occlusion: a universal phenomenon? *J. Exp. Biol.*, 212(20): 3305 – 3312.

Will T, Tjallingii WF, Thonnessen A, van Bel AJ, 2007. Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(25): 10536 – 10541.

Williams GC, 1966. Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. *Am. Nat.*, 100(916): 687 – 690.

Ye W, Yu H, Jian Y, Zeng J, Ji R, Chen H, Lou Y, 2017. A salivary EF-hand calcium-binding protein of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* functions as an effector for defense responses in rice. *Sci. Rep.*, 7: 40498.

Zheng HX, Xia JX, Zhou XM, Zhang YJ, 2016. Be on alert of rapid diffusion of *Tomato chlorosis virus* transmitted by whitefly in China. *China Veget.*, 1(4): 22 – 26. [郑慧新, 夏吉星, 周小毛, 张友军, 2016. 警惕烟粉虱传播的番茄褪绿病毒病在我国快速扩散. 中国蔬菜, 1(4): 22 – 26]

(责任编辑: 马丽萍)